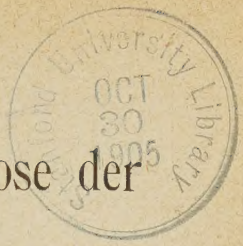
1904



Über die biochemische Diagnose der Schwangerschaft.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

hohen medizinischen Fakultät

der

Friedrich-Alexanders-Universität zu Erlangen

vorgelegt von

M. Kawasoye

Arzt aus Japan.

Tag der mündlichen Prüfung: 23. Juli 1904.

Erlangen.

K. b. Hof- u. Universitäts-Buchdruckerei von Junge & Sohn.

1904.

10

Gedruckt mit Genehmigung der hohen medizinischen Fakultät zu Erlangen.

Dekan: Herr Prof. Dr. Gerlach.
Referent: Herr Prof. Dr. Veit.

In neuerer Zeit ist die Biochemie der Schwangerschaft eine brennende Tagesfrage der Geburtshilfe geworden. Viele Autoren bestritten sich bei Erörterung dieses wichtigen und zugleich vielseitigen Themas heftig, leider aber zeitigte die Diskussion darüber noch keine Frucht, mit der die Wissenschaft sich hätte begnügen können.

Den Anstoß zu diesem interessanten Thema gab bekanntlich J. Veit. Allerdings war schon vor ihm, wie er selbst betont, von den verschiedensten Autoren beobachtet worden, daß Zotten oder Zottenbestandteile in das mütterliche Blut gesandt werden. Während man aber früher dies als eine anatomisch interessante Erscheinung betrachtete, behauptete Veit, daß eine Verschleppung von Zotten oder Zottenelementen in das mütterliche Blut oder, wie er es nannte, eine Deportation bestimmte Folgen haben müsse, wies er doch solche Bestandteile im Blute nach. Wiederum aber erkannte er, daß diese eingedrungenen Zottenbestandteile allmählich im mütterlichen Blute verschwanden, also von diesem aufgelöst werden mußten. Zu gleicher Zeit konstatierte Kollmann durch anatomische Untersuchung ungefähr zu derselben Zeit dasselbe; auch er hielt eine Auflösung des Syncytiums für erwiesen.

Bei der Beobachtung dieser zwei Faktoren: „Deportation“ und „Verschwinden“ mußte man not-

wendigerweise zu der Annahme kommen, daß diese Vorgänge eine für die Physiologie und Pathologie der Schwangerschaft sehr wichtige Rolle spielen. Zwischen Deportation und Verschwinden mußten eine Reihe von Veränderungsprozessen liegen, verborgene, noch unbekannte Faktoren mußten tätig sein, um das Produkt „das Verschwinden“ hervorzubringen.

In dieses dunkle Gebiet brachten die Arbeiten von Scholten und Veit ein gewisses Licht dadurch, daß es ihnen gelang, hämolytische Eigenschaften des Serums von vorbehandelten Kaninchen, wenn auch nicht regelmäßig, nachzuweisen, auch war die nach Einverleibung von Plazentargewebe auftretende Albuminurie sehr bemerkenswert.

Von besonderer Bedeutung war aber eine von Liepmann veröffentlichte Arbeit. Diesem Autor nämlich gelang es, solches Serum, welches auf das Blut Schwangerer reagierte und welches er spezifisch nannte, dadurch zu erhalten, daß er Kaninchen mit menschlicher Plazenta vorbehandelte. Er injizierte menschlichen Plazentarbrei im Gewichte von 15—20 g in die Bauchhöhle der Kaninchen in Abständen von 3—5 Tagen. Nach der letzten Injektion entnahm er das Serum. Dieses Serum reagierte präzipitierend auf das Serum der Schwangeren, das Retroplazentarblut und die menschlichen Plazentarbestandteile sehr deutlich, während dasselbe Kaninchenserum dem Serum der nichtschwangeren Frau gegenüber sich reaktionslos verhielt; er hatte es also in der Tat mit spezifischem Serum zu tun. Er selbst zog aus seinen Experimenten den Schluß, daß mit seinem spezifischen Serum Zottenbestandteile nachgewiesen werden könnten.

Wenn seine Mitteilung in der Tat richtig wäre,

so müßte ihm unsere Wissenschaft sehr dankbar sein, denn man könnte dann nicht nur mit seinem spezifischen Serum die von J. Veit angenommene und nachgewiesene Zottendeportation bestätigen, sondern damit Schwangerschaft überhaupt biochemisch diagnostizieren.

Gewiß ist, daß seine Mitteilungen bei allen Fachgenossen das größte Interesse erregten. Man ging auch sogleich ans Werk, diese durch Nachuntersuchungen auf ihre Richtigkeit zu prüfen.

Opitz und Weichard in Berlin widersprachen aber Liepmann auf Grund ihrer Experimente. Mit ihrem sogenannten spezifischen Serum erhielten sie im großen und ganzen bei Versuchen mit dem Blute Schwangerer negative Resultate, während es ihnen gelang, durch von ihnen hergestelltes Serum bei Versuchen mit Zottenbestandteilen oder Plazentarsaft präzipitierende Reaktion hervorzurufen. Zum Schlusse ihrer Arbeit betonen sie noch ausdrücklich, daß ihr spezifisches Serum auf das Serum Nichtschwangerer reagierte, also nicht spezifisch war. Sie ziehen deshalb aus ihren Versuchen den Schluß, daß das sogenannte spezifische Serum für die Diagnose der Schwangerschaft keinen Wert hat und daß es nur auf Zottenteile reagiert.

Wormser aus Basel machte ebenfalls eine Nachprüfung nach Liepmann; auch seine Versuche endeten ganz negativ.

Ich weiß nun zwar sehr genau, daß eine Nachprüfung der Arbeit anderer eine recht undankbare Aufgabe ist; auch lehrt mich das Erwägen der Arbeiten, welche sich an Veits Untersuchungen anschlossen, daß man bei Nachuntersuchungen sehr ge-

neigt ist, zu widersprechen, ohne doch etwas Neues an die Kette zu setzen, und daß man sehr leicht durch das negative Ergebnis der Nachprüfungen dazu geführt wird, die erste Angabe einfach zu leugnen, ohne weiter zu prüfen, ob nicht eine Fehlerquelle in der eigenen Arbeit tätig war, die das negative Ergebnis zeitigte — ich mache in dieser Hinsicht auch auf Liepmanns Angabe aufmerksam, worin er die Albuminurie, welche Scholten und Veit regelmäßig bei ihren Versuchen fanden, bestreitet, weil er sie unregelmäßig habe auftreten sehen; er vergißt aber dabei, daß seine Versuche ganz anders angeordnet waren —: trotzdem schreckte ich nicht zurück, ja ich hielt mich sogar dazu berechtigt, weiter nachzuforschen, inwieweit Liepmanns Annahme existenzberechtigt ist.

Die Nachprüfungen machte ich ganz analog den Liepmannschen Versuchen, weil ich es so für mein Thema „Biochemische Diagnose der Schwangerschaft“ am besten hielt. Bevor ich jedoch diese Nachprüfungen begann, untersuchte ich erst mehrmals, wie giftig überhaupt menschliche Plazenta auf das Leben der Tiere einwirkt. Die hierzu benützte menschliche Plazenta fing er selbst nach der Geburt unter ganz strengen aseptischen Kautelen auf, davon wurde dann sofort ein Stück von 20 g abgeschnitten. Dieser Abschnitt wurde in 0,85 % steriler Kochsalzlösung mit sterilisierter Schere so fein wie möglich zerkleinert, die Stückchen selbst wiederum wurden so lange in sterilisierter Kochsalzlösung abgewaschen, bis sie gebleicht waren. Diese ganz weißen, blutfreien Plazentarstückchen wurden unter strengen aseptischen Kautelen der Bauchhöhle der Kaninchen einverleibt. Nach dieser Einverleibung war der Zustand aller

drei Versuchskaninchen noch am Operationstag, wie folgt:

Dat.	Plazentar-menge	Tempe-ratur	Befinden	Eiweiß im Harn
2./I. 3 n.	20 g	37,4	lebhaft	—
„ 8^{30}		39,8	still, frißt nicht	—
„ 10		40,2	ganz still	+

3./I. 3 v. unter krampfhaften Erscheinungen gestorben.

Alle drei Kaninchenleichen kamen zur Sektion, und ich konnte jedesmal feststellen, daß keine Spur von Peritonitis vorhanden war, dagegen hatte ich an Leber und Niere folgende Befunde: Makroskopisch konnte ich zwar keine bedeutende Veränderung an Leber und Niere entdecken, mikroskopisch aber zeigten sich an der Leber folgende Veränderungen: Die Venen im interlobularen Bindegewebe waren erweitert und mit Blutkörperchen stark angefüllt. Auch fand ich manchmal fibrinartige Substanz mit Blutkörperchen in den Gefäßen, also nicht echte Thrombose. Die Zentralvene war nicht erweitert und mit Blutkörperchen erfüllt. Die Leberzellen konnten im allgemeinen nur sehr schwach tingiert werden. Das Protoplasma der Zellen sah etwas flockig aus und war mit Eosin sehr schwach und ungleichmäßig gefärbt. Auch die Zellkerne nahmen nur ganz schwach Hämatoxylinfärbung an und ihre Struktur war ebenfalls ganz unregelmäßig geworden. Manchmal sahen die Kerne ganz blaß aus. Die Zellgrenzen waren sehr undeutlich.

Der mikroskopische Befund an der Niere war wie folgt: Die Kapillargefäße waren im allgemeinen erweitert und mit Blutkörperchen erfüllt. Die Epithelzellen der Harnkanälchen, besonders der gewundenen

Harnkanälchen, waren nicht stark gefärbt; manchmal sahen sie ganz blaß aus. Das Protoplasma der Zellen war mit Eosin sehr schwach und unregelmäßig gefärbt und bot deshalb einen schmutzigen Anblick. Zuweilen waren die Zellgrenzen ganz verschwunden, hier waren die Zellen also ganz nekrotisch geworden. Die Kerne der Zellen zeigten ebenfalls blasses Aussehen und unregelmäßige Struktur, das Chromatin war in unregelmäßige Körnchen verteilt.

Der mikroskopische Befund ergab also nekrotische Veränderungen der Leber- und Nierenzellen, wenn sie auch nicht so stark wie bei den Weichardschen Versuchen mit dem spezifischen Serum + Plazenta hervortraten.

Nachdem nun diese Versuche mit 20 g Plazenta-Einverleibung gezeigt, daß die Kaninchen eine solche starke Dosis nicht vertragen können, beschloß ich, kleinere Plazentarmengen und mehrere Male zu injizieren. Wie das vorigemal fing ich Plazenta auf und behandelte sie unter strenger Asepsis. Die durch sterilisierte Hackmaschine zerkleinerte Plazentarmasse wurde mit 0,85 % sterilisierter Kochsalzlösung gründlich behandelt, bis sie ganz weiß aussah. Dieser Plazentarbrei wurde dann durch sterilisierte Gaze gepresst, durch welche Manipulation ich festen Plazentarbrei bekam. Bei der Einverleibung in die Bauchhöhle wurde dieser Brei mit steriler 0,85 % Kochsalzlösung zu gleichen Teilen verdünnt. Das Verhalten des Tieres war wie folgt:

Dat.	Plazentar-menge	Zustand des Tieres	Eiweiß im Harn	Tempe-ratur
20./X. 3^{20}	10 g	lebhaft	—	37,8
21./X. 3^{20}	10 g	etwas still	—	38,4
22./X. 3^{20}	10 g	ganz still empfindlich frißt nicht	+	39,5
24./X. 3^{20}	15 g	Durchfall	+	39,9
24./X. 8		gestorben		

Der Sektionsbefund ergab keinerlei peritonische Veränderungen. Im allgemeinen ergibt der mikroskopische Befund dieselben Veränderungen wie bei den Versuchen mit 20 g Plazenta. Als Resultat dieses Versuches ergibt sich, daß die Tiere auch kleine Mengen menschlicher Plazenta nicht vertragen können, wenn sie in kurzen Abständen injiziert werden.

Ich machte nun einen wiederholten Versuch mit geringen Plazentarmengen, die in etwas längeren Abständen in die Bauchhöhle von Kaninchen injiziert wurden. Die Methode des Versuches war also völlig analog der Liepmanns. Unmittelbar nach der Ausstoßung und dem sterilen Auffangen der Plazenta schnitt ich mit sterilen Instrumenten die einzelnen Kotyledonen in 0,85% sterilisierter Kochsalzlösung ab. Hierauf wurden die Kotyledonen in Kochsalzlösung ausgewaschen, mit einer gewöhnlichen, steril gemachten Fleischhackmaschine ganz fein zerkleinert und durch ein Sieb gepresst, dessen Maschen so eng wie möglich waren. Der Plazentarbrei selbst wurde unter der striktesten Beobachtung der Sterilisationsgesetze in einem Glastrichter, in dem steriles Gazemulltuch eingelassen war, angesammelt und wiederholt mit 0,85% steriler Kochsalzlösung so lange durchspült, bis das Wasser unten klar ablief. Der dicke Plazentarbrei wurde in Erlenmeyerschen Kölbchen

im Eisschrank aufgestellt. Von diesem so präparierten Plazentarbrei entnahm ich etwas und probte in einem Bouillonröhrchen, er war steril geblieben. Ich muß hier nachholen, daß ich sowohl beim ersten wie beim zweiten Versuch ebenso wie hier diese Probe des Injektionsmaterials machte. Bei allen diesen Proben ergab es sich unzweifelhaft, daß der Brei vollständig steril geblieben war.

Ich erhielt durch angegebene Manipulation ca. 80—120 g festen Plazentarbrei. Von diesem injizierte ich den Versuchstieren unter strenger Asepsis in Abständen von 1—3 Tagen mittels einer Spritze mit abgestumpfter Kanüle 10—15 g, gemischt mit $^1/_2$ Volumen steriler Kochsalzlösung in die Bauchhöhle der Kaninchen.

Im ganzen machte ich an 5 Kaninchen, 3 weiblichen und 2 männlichen, auf ganz gleiche Weise Injektionsversuche. Mit Ausnahme eines Falles, bei dem Peritonitis auftrat, wurden alle Injektionsreihen mit gutem Erfolge beendet. Die 4 Kaninchen, die noch in Betracht kommen, blieben aber der Injektion gegenüber nicht unempfindlich, sie reagierten darauf regelmäßig. Jedesmal konnten geringe Mengen Eiweiß am 1.—3. Tage nach der Injektion im Harne nachgewiesen werden und das Allgemeinbefinden blieb auch nicht normal. Das lehren folgende Tabellen:

I. Kaninchen (männlich).

Dat.	Plazentar-menge	Tempe-ratur	Allgemeinbefinden der Tiere	Eiweiß im Harn
25./X.	10 g	37,9	lebhaft	—
26./X.		38,7	etwas still	±
27./X.	10 g	39,3	etwas still	+
28./X.	13 g	39,5	ganz still	+

Dat.	Plazentar-menge	Tempe-ratur	Allgemeinbefinden der Tiere	Eiweiß im Harn
30. X.	13 g	38,5	wieder etwas lebhaft	±
2. XI.	13 g	37,8	etwas still	±
3./XI.		38,4	wieder lebhaft	±?
4./XI.			„	?
5./XI.		37,4	„	—
7./XI.		37,7	„	—
7./XI.	Gewinnung des Serums.			

II. Kaninchen (männlich).

Dat.	Plazentar-menge	Tempe-ratur	Allgemeinbefinden	Eiweiß im Harn
11./XII.	10 g	38 0	lebhaft	—
13./XII.	„	38,2	etwas still	—
15. XII.	„	37,9	„	—
17./XII.	„	37,9	„	?
18. XII.	„	38,2	lebhaft	±
21./XII.	„	38,7	„	?
23. XII.	„	38,9	wieder etwas still	+
25./XII.	„	38,5	wieder lebhaft	—
29./XII.		37,6	„	—
30./XII.		37,6	„	—
30. XII.	Gewinnung des Serums.			

III. Kaninchen (weiblich).

Dat.	Plazentar-menge	Tempe-ratur	Allgemeinbefinden	Eiweiß im Harn
25./I.	10 g	38,2	lebhaft	—
27./I.	„	38,9	„	±
29./I.	„	39,5	etwas still, frißt nicht	—
1./II.	„	39,2	etwas still, frißt nicht	?
3./II.	„	38,9	etwas still	?
6./II.	„	38,5	wieder lebhaft	—
8./II.	„	38,2	„	—
10./II.		38,0	„	—
12. II.		37,8	„	—
13./II.		37,8	„	—
13. II.	Gewinnung des Serums.			

IV. Kaninchen (weiblich).

Dat.	Plazentar-menge	Tempe-ratur	Allgemeinbefinden	Eiweiß im Harn
27./I.	10 g	38,0	lebhaft	—
29./I.	„	39,8	still, frißt nicht	—

Dat.	Plazentar-menge	Tempe-ratur	Allgemeinbefinden	Eiweiß im Harn
1./II.	10 g	39,2	still, frißt nicht	±
3./II.	„	39,4	still, aber frißt	±
5./II.	„		lebhaft, frißt	—
9./II.	„		„	—
11./II.	„	38,6	„	—
13./II.	„	37,8	„	—
19./II.	Gewinnung des Serums.			

Aus all diesen Befunden nun schließe ich, daß die Tiere durch Injektion kleinerer Mengen menschlicher Plazenta in ihrem Wohlbefinden etwas gestört werden. Auch kommt, wie schon gesagt, am 1.—3. Tage nach der Injektion Eiweiß im Harn vor, wenn auch in geringer Menge, aber das Merkwürdige ist, daß das Eiweiß nach mehrmaligen Injektionen nicht wieder auftritt. Es liegt nicht fern zu vermuten, daß die Tiere bei aufeinanderfolgenden schwächeren Injektionen die giftige Wirkung der Plazenta allmählich vertragen, d. h. sie haben bei späteren Injektionen jedenfalls schon genügend Antitoxin in sich entwickelt, um das Plazentargift neutralisieren zu können. Diesem Verhalten des Urins entspricht die Stimmung des Tieres: bei Bestehen der Albuminurie ist sie gedrückt, beim Schwinden der Albuminurie gehobener, das Tier wird wieder lebhaft.

5—6 Tage nach der letzten Injektion entnahm ich das Serum aus den Gefäßen des Oberschenkels.

Dies so gewonnene Blut ließ ich einige Zeit in der Eiskammer stehen, bis klares Serum ausgeschieden war. Dieses ausgeschiedene Serum zentrifugierte ich und bekam ganz klares gelbliches Serum, welches ich in eine Anzahl Reagenzgläser verteilte und im Eisschranke aufbewahrte. Die Absicht dabei war, eine Infektion auf dem Luftwege zu vermeiden. Hätte ich

nur ein einziges Erlmeyersches Kölbchen zur Aufbewahrung angewendet, so wäre das Serum, so oft ich eben, um einen Versuch zu machen, etwas entnommen hätte, mit der Luft in Berührung gekommen und die Gefahr entstanden, daß sekundäre Keime hineinkamen. Durch mein Verfahren aber, nicht mehr Serum, als für einen Versuch nötig, in ein Reagenzglas zu bringen, war eine öftere Berührung mit der Luft ausgeschlossen.

Meine Versuche mit Serum führte ich ganz analog der Liepmannschen Versuchsweise durch. Folgende Instrumente und Utensilien waren hierzu nötig:

1. Pipetten in größerer Anzahl, denn es ist wichtig, bei jedem Versuche eine andere Pipette anzuwenden; ich selbst hatte immer 5 Pipetten zur Hand, aber noch mehr sind wünschenswert. 2. Mehrere Reagenzgläschen, die ich so klein als möglich wählte. Dringend geboten ist es, Pipetten und Reagenzgläschen selbst sehr vorsichtig abzuwaschen und zu sterilisieren, da sonst leicht auf ein Mißlingen zu rechnen ist. 3. 0,85% sterilisierte Kochsalzlösung. 4. Ein guter Brutschrank.

Das Verfahren beim Einbringen des Serums in das Reagenzglas war wie folgt: Zuerst wurde in das Röhrchen 1,0 (0,85%) sterilisierte Kochsalzlösung mit der Pipette gebracht, dann mit einer anderen Pipette 0,2 g spezifisches Kaninchenserum, endlich mit einer dritten Pipette das Serum, dessen Inhalt biochemisch zu untersuchen war. Waren diese Manipulationen auf das gewissenhafteste ausgeführt, so wurde das Röhrchen sofort in den Brutschrank gebracht und bei 37° C. stehen gelassen. Zur Kontrolle wurde auch ein Röhrchen in den Brutschrank gebracht, das nur

Kochsalzlösung + spezifischem Serum enthielt, also ohne Zusatz von dem zu untersuchenden Serum war.

Die Befunde, welche dieses sogenannte spezifische Serum lieferte, waren folgende:

Versuch mit dem Serum des I. Kaninchens.

Nr.	Kaninchenserum	Zu prüfendes Serum	Nach 5 Min.	Nach 2 Std.	Nach 24 Std.
1.	0,2	Kontrolle ohne Zusatz	—	—	—
2.	„	Frauenblutserum (Nichtgravider) 0,1	—	—	—
3.	„	Retroplazentarblutserum 0,1	++	+++	+++
4.	„	Retroplazentarblutserum 0,1	+	+	+++
5.	„	Fötalblutserum aus Nabelschnur 0,1	—	—	n. 8 Std. +
6.	„	Retroplazentarblutserum 0,2	++	+++	n. 24 Std +++
7.	„	Plazentarzotten 0,1	++	+++	+++

Versuch mit dem Serum des II. Kaninchens.

Nr.	Kaninchenserum	Zu prüfendes Serum	Nach 5 Min.	Nach 2 Std.	Nach 24 Std.
1.	0,2	Kontrolle ohne Zusatz	—	—	—
2.	„	Frauenblutserum Nichtgravider 0,1	—	—	—
3.	„	Männerblutserum 0,1	—	—	—
4.	„	Retroplazentarblutserum 0,1	+	++	+++
5.	„	Plazentarzotten 0,1	+	++	+++
6.	„	Frauenblutserum Gravider 0,1	+	++	+++
7.	„	Fötalblutserum aus Nabelschnur 0,1	—	—	+++
8.	„	Retroplazentarserum 0,5	++	+++	++++
9.	„	Retroplazentarserum 0,2	+	++	+++
10.	„	*Zottensaft 0,1	+	++	++
11.	„	Nr. 2 + Plazentarzotten 0,1	+	++	+++

Der Zottensaft war eine Lösung, welche aus Plazentarbrei mit gleichen Teilen Kochsalzlösung durch 3 Tage langes Stehen im Eisschranke gewonnen wurde.

Versuch mit dem Serum des III. Kaninchens.

Nr.	Kaninchenserum	Zu prüfendes Serum	Nach 5 Min.	Nach 2 Std.	Nach 10 Std.
1.	0,2	Kontrolle ohne Zusatz	—	—	—
2.	„	Männerblutserum 0,1	—	—	—
3.	„	Frauenblutserum Nichtgravider 0,1	—	—	—
4.	„	Retroplazentarblutserum 0,1	—	+++	++++
5.	„	Fötalblutserum aus Nabelschnur 0,1	—	+++	++++
6.	„	Frauenblutserum Gravider 0,1	±	++	++++
7.	„	Plazentarzotten 0,1	±	++	+++
8.	„	Zottensaft 0,1	±	+	++

Versuch mit dem Serum des IV. Kaninchens.

Nr.	Kaninchenserum	Zu prüfendes Serum	Nach 5 Min.	Nach 2 Std.	Nach 10 Std.
1.	0,2	Kontrolle ohne Zusatz	—	—	—
2.	„	Frauenblutserum Nichtgravider 0,1	—	—	—
3.	„	Männerblutserum 0,1	—	—	—
4.	„	Frauenblutserum Gravider 0,1	—	—	±
5.	„	Frauenblutserum von anderen Graviden 0,1	+	++	+++
6.	„	Retroplazentarblutserum 0,1	±	±	++
7.	„	Fötalblutserum aus Nabelschnur 0,1	±	+	++
8.	„	Plazentarzotten 0,1	±	+	+++
9.	„	Frauenblutserum (Schwangerschaftserbrechen) 0,1	—	++	+++

Ich hatte also im allgemeinen positive Resultate. Das Kaninchenblutserum, welches mit menschlichem Plazentarbrei vorbehandelt war, zeigte bei Zusatz vom

Serum Gravider, von Retoplazentarblut, von Nabelschnurblut, von Serum Nichtgravider, wenn diesem Zotten und Zottenbestandteile beigemischt waren, deutlich präzipitierende Reaktion oder wenigstens diffuse Trübung. In manchen Fällen kommt schon nach 5 Minuten eine deutliche Trübung, sicher aber tritt in den meisten Fällen 2 Stunden, spätestens 10 Stunden nach Zusatz eine deutliche Präzipitationsreaktion ein; bei den Kontrollversuchen findet dies nie statt. Bei den Versuchen mit Nabelschnurblut hatte ich nur in einem Falle nach 18 Stunden Trübung beobachtet, in den übrigen Fällen schon nach 10 Stunden Trübung oder präzipitierende Reaktion.

Bei Retroplazentarserum und Zotten reagierte das spezifische Serum am stärksten, während beim Serum Gravider die Reaktion immer schwach war und etwas unregelmäßig eintrat, d. h. einmal schnell, das anderemal langsamer. Dieses merkwürdige Verhalten zeigt folgende Versuchstabelle:

Nr.	Kaninchenserum	Zu prüfendes Serum	Nach 5 Min.	Nach 2 Std.	Nach 10 Std.
1.	0,2	Frauenblutserum Gravider 0,1	+	++	+++
2.	„	Frauenblutserum Nichtgravider, aber Eklampsie vor 1 Jahr 0,1	—	—	—
3.	„	Frauenblutserum einer anderen Graviden als Nr. 1 0,1	—	—	—
4.	„	Frauenblutserum einer anderen Graviden als Nr. 1 0,5	—	—	—
5.	„	Frauenblutserum (Schwangerschaftserbrechen) 0,1	±	+++	++++

Wenn nun auch beim Serum Gravider die Reaktion unregelmäßig und schwach ist, so bleibt doch (eine)

die interessante Tatsache bestehen, daß auch starke präzipitierende Reaktion beim Blute Gravider vorkommt, wenn diese an Störungen, wie Erbrechen etc. leiden. Dieses Verhalten läßt die Vermutung zu, daß bei normalen, also gesunden Schwangeren das Zottengift, welches durch die Auflösung der Plazentarzotten ins mütterliche Blut gelangt, sofort durch Antitoxin neutralisiert wird. Gelangen dagegen große Mengen Plazentarzellen ins mütterliche Blut, entwickelt sich demnach zu viel Zottengift, als daß es durch die Antitoxine neutralisiert werden könnte, so entstehen Störungen, z. B. Eklampsie, Schwangerschaftserbrechen u. s. w. Bei letzteren Affektionen muß demnach das spezifische Serum sehr lebhafte und starke Reaktion hervorrufen, denn das Blut solcher Schwangerer enthält viel Substanz, die durch das unbekannte Element im spezifischen Serum präzipitiert wird. Auch die starke Reaktion des Retroplazentarblutes kann ebenso erklärt werden, wenn man annimmt, daß sich eben in ihm mehr Zottenteile befinden als im übrigen Blute Gravider, weil es während der Austreibung lange Zeit mit Zotten der Plazenta in Berührung war.

Und nun gestatte ich mir zum Hauptpunkt meines Themas überzugehen, zu der Frage: „Kann man mit diesem spezifischen Serum die Schwangerschaft sicher diagnostizieren?“

Meine Antwort lautet auf Grund meiner eben angeführten Versuche, die ich ja hauptsächlich nur für biochemische Zwecke anstellte:

1. In einer Reihe von Fällen gelingt die Präzipitinreaktion, während sie bei einer kleinen Minderheit von Fällen ausbleibt.

2. Sie ist daher diagnostisch nicht verwertbar, aber physiologisch von großem Interesse. Sie beweist uns, daß tatsächlich eine Auflösung von Plazentarteilen im Blute der schwangeren Frau, wenn auch nicht ganz regelmäßig, erfolgt.

Über den letzteren Punkt „Auflösungsvorgänge der Plazenta“ hatte ich schon früher wiederholt Versuche angestellt. Der Erfolg meiner Untersuchungen war ein interessanter Befund, welcher in innigem Zusammenhang mit der Herkunft des Syncytiums stehen muß. Während ich mich nun über das Thema „Die Herkunft des Syncytiums“ noch viel zu beschäftigen habe, möchte ich doch hier vorläufig einen Teil meiner Arbeit mitteilen, weil ich hier eine sehr gute Gelegenheit habe, etwas Spezielleres über Auflösungsvorgänge nachzuweisen.

Meine Untersuchungsweise und ihr Resultat waren kurz gefaßt wie folgt:

Als Versuchsstückchen der Plazenta gebrauchte ich immer solche, die der basalen Schicht des Chorion d. h. der nach dem Amnion zu liegenden Schicht entnommen waren. Diese Schicht besteht bekanntlich aus der Langhansschen Zellschicht und aus nur sehr wenig Syncytium.

Sobald ich unter antiseptischen Kautelen die Plazenta aufgefangen hatte, entnahm ich dieser ein $^1/_2$ cm dickes Fötalstückchen, ebenfalls unter antiseptischen Kautelen, und legte dasselbe in das Serum einer gebärenden Frau. Dieses Serum bekam ich dadurch, daß ich das Retroplazentarblut sogleich, ohne es gerinnen zu lassen, zentrifugierte.

Das in das Serum gelegte Plazentargewebe ließ ich bei Zimmertemperatur stehen. Nach 48 Stunden

härtete ich es in 4% Formalin- oder in Zenkerscher Lösung. Hierauf Behandlung mit steigendem, schließlich absolutem Alkohol und Einbettung in Celloidin. Dann wurde das Präparat in 5—7 mm dicke Stückchen geschnitten und mit Hämatoxylin-Alaun-Eosin, Lithionkarmin oder nach Van Giesonscher Methode gefärbt. Auch hatte ich manchmal die Fixierung nach Themming, Nigrosin-Pikrinsäurelösung und noch einige andere Methoden angewendet.

Um Vergleiche anstellen zu können, brachte ich Stückchen der gleichen Schicht derselben Plazenta, die zum Serumversuch genommen wurde, in 0,6% Kochsalzlösung, unter Aufbewahrung im Brutschrank (37° C.), andere sogleich in 4% Formalinlösung. Die Stückchen nun, welche in Kochsalzlösung gebracht waren, gingen nach einigen Stunden leider in Fäulnis über, sie waren deshalb zur mikroskopischen Untersuchung ungeeignet. Die in das Serum gebrachten Stückchen jedoch blieben intakt. Ich brachte deshalb fernerhin, um Vergleiche anstellen zu können, die der nämlichen Stelle der Plazenta entnommenen Stückchen nur noch in Formalin- oder Zenkersche Lösung. Beide Präparate wurden behufs weiterer Untersuchungen ganz nach der vorhin geschilderten Methode eingebettet und gefärbt. Jeder Versuch wurde mit immer neuer, normaler Plazenta gemacht. Es waren im ganzen 7 Versuche und die Resultate immer dieselben. Ich bringe im folgenden, was ich gefunden.

Es war bei diesen Versuchen für mich sehr interessant beobachten zu können, wie sich aus den Plazentarstückchen, die in das Serum gebracht waren, nach einigen Stunden eine fadenziehende Substanz entwickelte. Die Entwicklung geschah aber nicht auf

einmal, sondern nach und nach in dem Maße, daß nach 48 Stunden nicht nur die deziduale Oberfläche, sondern ringsherum das ganze Plazentarstückchen umhüllt war. Diese Substanz konnte ich durch Alkohol zum Gerinnen bringen. Bei den Vergleichsversuchen, die ich an die in Kochsalzlösung gebrachten Stückchen vornahm, konnte ich eine derartige Substanz nicht entdecken. Die Serumsstückchen mit der entwickelten Substanz behandelte ich nun nach der schon mitgeteilten Methode und untersuchte sie dann mit dem Mikroskope sehr genau: zuerst bei schwächerer, dann bei stärkerer Vergrößerung.

Mikroskopischer Befund unter schwächerer Vergrößerung (Okular I Obj. AA Zeiß): Die Zotten, welche in den intervillösen Raum eintauchen, sind mit Blutkörperchen und der schon erwähnten Substanz umhüllt, während ich diese, wie schon gesagt, bei den Kontrollversuchen nie entdecken konnte. Die Blutkörperchen sind der Form nach meistens normal und durch Eosin etwas gefärbt. Die nicht nur außen, sondern auch zwischen den Zotten entwickelte Substanz ist ganz strukturlos und durch Eosin nur schwach gefärbt. Sie bedeckt zum größten Teile das Gesichtsfeld so, daß dieses Präparat im Verhältnis zu den Präparaten der Kontrollversuche etwas schmutzig aussieht. Diese Substanz ist mit jener im Serum entwickelten, fadenziehenden Masse identisch, weil die Plazentarstückchen, die als Kontrollversuch in Kochsalzlösung oder direkt in Formalin gebracht waren, nie einen derartigen Anblick boten.

Befunde unter stärkerer Vergrößerung (Okular I, $^1/_{12}$ Emmersion Zeiß):

Am Epithelmantel sind verschiedene Veränderungen zu erkennen:

1. Die Langhansche Zellschicht haftet zwar im allgemeinen fest auf dem Zottenbindegewebe, an einzelnen Stellen aber ist diese Schicht vom Zottenbindegewebe abgehoben, so daß hier der etwas verdickte Rand des Zottenbindegewebes scheinbar wie ein Membran aussieht. Außerdem kann man das Syncytium öfter mit Anschwellungen und verschieden geformten Fortsätzen versehen auf der Zellschicht bemerken. Die Zellgrenzen sind nicht immer deutlich, im allgemeinen sogar undeutlich. Die Langhansche Zellschicht sieht an einigen Stellen ähnlich wie Syncytium aus: bandartig verlängert mit unregelmäßig zerstreuten Kernen (natürlich keine Zellgrenzen), an anderen dagegen angeschwollen, so wie sie Kollmann in seiner Arbeit in Figur 5 darstellt. Die Zellen der Langhanschen Zellschicht, die die Grenzen der einzelnen Zellen erkennen läßt, zeigen bei senkrechtem Schnitt kubische Form, vielfach sind die Peripheren und Basalflächen konvex. Daneben kommen auch tonnenförmige oder kugelrunde Formen vor. Im Flach- oder Horizontalschnitt sind diese Zellen meist polygonal. Ihre Zellkörper sind entweder trübe, fein granuliert oder verhältnismäßig hell. Das Protoplasma kann mit Eosin nur sehr wenig gefärbt werden. Die Kerne sind meistens oval und basal gelagert. Sie haben im Schnitt mehr körnig erscheinendes Chromatinnetz mit oder ohne Kernkörperchen.

2. Die schleimige, wolkige Substanz, welche sich um die Zotten herum entwickelt, kann mit Eosin nur wenig tingiert werden. Wenn ich die Stückchen, die ich mit dem Mikrotom wieder in 5—7 mm dicke Scheibchen geschnitten hatte, nach der Vangiesonsche Methode behandelte, wurde diese Substanz mit Fuchsin

gefärbt, so rot wie die Langhansche Zellschicht, während die roten Blutkörperchen mit Pikrinsäure gelb gefärbt wurden. Diese schleimige Substanz haftet ganz fest an der Oberfläche der Langhanschen Zellschicht. Die Grenzlinie zwischen der Zellschicht und dieser Substanz ist im allgemeinen undeutlich; das Protoplasma ging also direkt in diese Substanz über. Die Struktur dieser Substanz zeigt sich ganz analog der des Protoplasma der Langhanschen Zellschicht. Diese schleimige Substanz war zuweilen sehr flockig und ich konnte darin Vakuolen erkennen. Bisweilen war diese Substanz sehr dick, so daß ihr Durchmesser den der Zellschicht übertraf, manchmal aber auch wieder so schmal, daß ich sie als eine flockige, etwas helle Schicht kaum mehr konstatieren konnte. An der Oberfläche dieser Substanz beobachtete ich manchmal viele Fortsätze, welche wieder mit anderen Fortsätzen verbunden waren. Im allgemeinen war die Oberfläche der schleimigen Substanz sehr locker, so daß sie manchmal wie Flimmer aussah (Fig. 1). Die Kerne derselben nahmen durch Hämatoxylin gut Färbung an, ganz besonders aber das Chromatin war regelmäßig netzförmig, mit oder ohne Kernkörperchen, gefärbt, also ganz analog den Kernen des Syncytiums.

An solchen Stellen, an welchen viele Kerne im Syncytium angesammelt liegen und das Syncytium selbst angeschwollen ist, fand ich die Zellenreihe der Langhanschen Zellschicht immer anormal angeordnet, die Zellen sind sehr dicht gedrängt, wie Figur 2 zeigt; ich entdeckte sogar noch direkt auf diese Zellschicht gelagerte Zellen, deren Protoplasma ich konstatieren konnte. Außerdem konnte ich manchmal in dem um die Kerne herumgelagerten Zellprotoplasma eine, wenn

auch fast kaum mehr zu erkennende Zellgrenze bemerken. Diese Befunde zwingen mich zu der Annahme, daß ich es hier im Syncytium nicht nur, wie schon bewiesen, mit Kernen aus der Langhanschen Zellschicht zu tun hatte, sondern daß das Syncytium oder eine ihm sehr ähnliche Substanz durch den Auflösungsprozeß der Langhanschen Zellschicht hier entstand. Dieses Resultat wurde noch durch andere Befunde gesichert. Ich fand nämlich an einer anderen Stelle, an der das Syncytium ganz dünn, bandförmig war und die Kerne fehlten oder doch in sehr weiten Abständen gelagert waren, daß auch die Zellen der Zellschicht ganz fehlten oder doch nur in sehr weiten Abständen zu entdecken waren. Außerdem fand ich im interyillösen Raum viele Kügelchen, welche aus der schleimigen Substanz bestehen. Diese Kügelchen enthalten entweder viele Kerne oder gar keine.

Außerdem zeigen sich derartige interessante Veränderungen, wie sie Figur 2 bringt. An der linken Seite der Zottenepithelschicht fand ich, daß die Zellgrenze der Langhanschen Zellschicht sehr deutlich zu erkennen war, dieselbe Zellschicht zeigte aber nach rechts hin immer undeutlichere Zellgrenzen und an einer Stelle waren gar keine Zellgrenzen mehr vorhanden. Dieser Anblick machte den Eindruck, als ob die Zellschicht selbst zuweilen eine Unwandlung in eine Substanz, ähnlich dem Syncytium, erleiden kann.

Meine bisherigen Befunde sind kurz zusammengefaßt folgende: „Die Langhansche Zellschicht kann das Syncytium entwickeln, wenn sie mit dem Serum Gravider in Berührung kommt. In dem Präparate sieht es ferner ganz so aus, als ob das Syncytium oder

eine ihm sehr ähnliche Substanz durch den Auflösungsprozeß der Langhanschen Zellschicht entstanden ist."

Ich habe nun noch einen weiteren kleinen Nachtrag zu bringen.

Es ist eine allgemein bekannte und auch eine sehr alltägliche Sache, daß chemische Substanzen, welche im Blute in ab- und normaler Weise enthalten sind, zuweilen unter bestimmten Verhältnissen im Urin ausgeschieden sind. Diese Tatsache, besonders weil die Albuminurie bei Plazentarinjektion auftritt, veranlaßte mich, auch den Urin Schwangerer biochemisch zu untersuchen; ich vermutete nämlich, daß Zottengift unter bestimmten Verhältnissen auch im Harn der Schwangeren enthalten ist. Im allgemeinen war die Versuchsweise analog der der Serumversuche. Den Urin, welcher zum spezifischen Serum gebracht wurde, bekam ich dadurch, daß ich ihn nach der Desinfektion der äußeren Urethralmündung (mit Lysol und dann 0.85% Kochsalzlösung) mit sterilisiertem Katheter von der Blase aus direkt in das vorher sterilisierte Reagensglas leitete. Bevor ich damit aber Versuche unternahm, machte ich jedesmal Eiweißprobe und konstatierte mit Sicherheit, daß kein Eiweiß enthalten war.

Bei folgender Versuchsserie gebrauchte ich verschiedene Urinmengen, indem ich zum Urin das durch Plazentarinjektion gewonnene spezifische Serum hinzusetzte.

Nr.	Kaninchenserum	Urin der Schwangeren	Nach 5 Min.	Nach 2 Std.	Nach 10 Std.
1.	0,2	1,0 g	± ?	+	++
2.	„	0,5 „	—	+	++
3.	„	0,3 „	—	+	++
4.	„	0,1 „	—	—	+
5.	ohne Zusatz	1,0 „	—	—	—
6.	0,2	ohne Zusatz	—	—	—

Meine Resultate waren also positiv. Deutlich kann ich dadurch beweisen, daß der Urin sicher nach 2 Stunden reagiert.

Ich machte hierauf erneute Versuche, jedoch immer nur mit der gleichen Urinmenge von 0,5 g, die auf dieselbe Weise, wie vorhin geschildert, gewonnen war.

I. Tabelle.

Nr.	Spez. Kaninchenserum	Urin	Nach 5 Min.	Nach 2 Std.	Nach 10 Std.
1.	0,2	ohne Zusatz	—	—	—
2.	ohne Zusatz	Urin von Graviden 1,0	—	—	—
3.	0,2	Urin v. Nichtgraviden 0,5	—	—	+
4.	„	„	—	—	—
5.	„	„	—	—	—
6.	„	Urin von Graviden 0,5	±	+	++
7.	„	„	±	+	++
8.	„	„	±	+	++

II. Tabelle.

Nr.	Spez. Kaninchenserum	Urin	Nach 5 Min.	Nach 2 Std.	Nach 10 Std.
1.	0,2	ohne Zusatz	—	—	—
2.	ohne Zusatz	Urin von Graviden 1,0	—	—	—
3.	0,2	Urin v. Nichtgraviden 0,5	—	—	—
4.	„	„	—	—	—
5.	„	„	—	—	—
6.	„	Urin von Graviden 0,5	—	+	++
7.	„	„	—	+	++
8.	„	„	—	++	++

In den allermeisten Fällen reagierte also der Urin Schwangerer auf das spezifische Serum spezifisch, aber es trat auch beim Urin einer Nichtschwangeren nach 10 Stunden ziemlich deutliche Trübung ein, obwohl durch bakteriologische Untersuchung erwiesen wurde, daß der Urin keimfrei war. Die Resultate dieser Serie

sind also nicht absolut spezifisch. Ich will mich hier nicht weiter auslassen, woher es kommt, daß die Reaktion keine absolut spezifische ist, ich vermute aber, daß ein interessanter, unbekannter Faktor hier tätig ist, dessen Eruierung sehr nützlich wäre.

Es lag ja nun nahe zu sehen, ob es möglich ist, durch eine spezifische Substanz, die im Harn ausgeschieden wurde, im Tierkörper eine Veränderung im Serum hervorzurufen, so daß dieses nun ebenso spezifisch reagierte, wie das mit Plazenta behandelte Serum.

Zum Schluß referiere ich deshalb nun noch über einen weiteren Versuch.

Ich injizierte den Urin von Schwangeren, die Dosis immer zu 20 g in die Bauchhöhle vom Kaninchen in Abständen von 1—3 Tagen unter ganz strengen aseptischen Kautelen.

Das Kaninchen vertrug die Injektion sehr gut und reagierte auf dieselbe nicht. 6 Tage nach der letzten Injektion entnahm ich Blut aus den Schenkelgefäßen. Auf dieselbe Weise, wie ich zu den vorherigen Versuchen das sogenannte spezifische Serum gewann, bereitete ich auch hier aus diesem so gewonnenen Blute Serum. Mit ihm machte ich Urinproben, um es auf seine Spezifität zu proben.

Die Resultate waren, wie folgt:

Nr.	Urinserum	Urin	Nach 5 Min.	Nach 2 Std.	Nach 10 Std.
1.	0,2	Urin von Graviden 0,5	—	+	+++
2.	„	„	—	+	+++
3.	„	„	—	++	+++
4.	„	Urin v. Nicht-graviden 0,5	—	—	++
5.	„	„	—	—	—
6.	„	„	—	—	—

Auch das Urinserum ist also nicht absolut spezifisch, analog dem Ergebnisse des vorhergehenden Versuches.

Die Resultate dieser meiner Experimente mit Urin fasse ich kurz in folgenden Sätzen zusammen:

1. Die präzipitierende Reaktion ist zwar nicht absolut, aber es tritt doch in den meisten Fällen Trübung und präzipitierende Reaktion ein.

2. Diese Reaktion des Harns tritt sowohl etwas später, als auch etwas schwächer auf als die des Serums. Die Ursache dafür liegt nach meiner Vermutung darin, daß die präzipitierende Substanz im Harn in geringerer Menge als im Blute enthalten ist.

3. Die präzipitierende Substanz im Harn ist vielleicht analog der des Blutes. Ein Beweis, daß dies so sein kann, ist doch gewiß der Befund, daß das Serum des Kaninchens, welches mit Urin Gravider vorbehandelt war, genau so reagierte, wie das des Kaninchens, welches mit Plazenta injiziert war.

4. Die präzipitierende Substanz selbst möchte ich als eine Eiweißart anprechen. Allerdings gelingt es beim Harn nicht, sie durch Eiweißprobe zu finden; die Ursache liegt darinnen, daß sie in zu geringer Menge vorhanden ist.

5. Die präzipitierende Substanz, die durch Injektion in das Blut gelangt ist, wird wieder durch die Tätigkeit der Niere ausgeschieden und gelangt so in den Urin. Ob bei diesem Prozesse auch die Leber mitbeteiligt ist, muß ich dahingestellt sein lassen.

Zum Schluß erfülle ich die angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. Veit für die Überweisung des Themas und Durchsicht der Arbeit meinen ehrerbietigsten Dank auszusprechen.

Figur I.

a = Die Langhansche Zellschicht mit sehr deutlichen Zellgrenzen.

a 1 = Die Langhansche Zellschicht mit undeutlichen Zellgrenzen.

b = Eine schleimige Substanz.

c = Die Oberfläche der schleimigen Substanz, durch den Auflösungsprozeß flimmerartig geworden.

d = Eine schmale, bandartige Zellschicht.

e = Kapillargefäß.

Figur II.

a = Die Langhansche Zellschicht mit sehr deutlichen Zellgrenzen.

b = Die schleimige Substanz.

c = Syncytium.

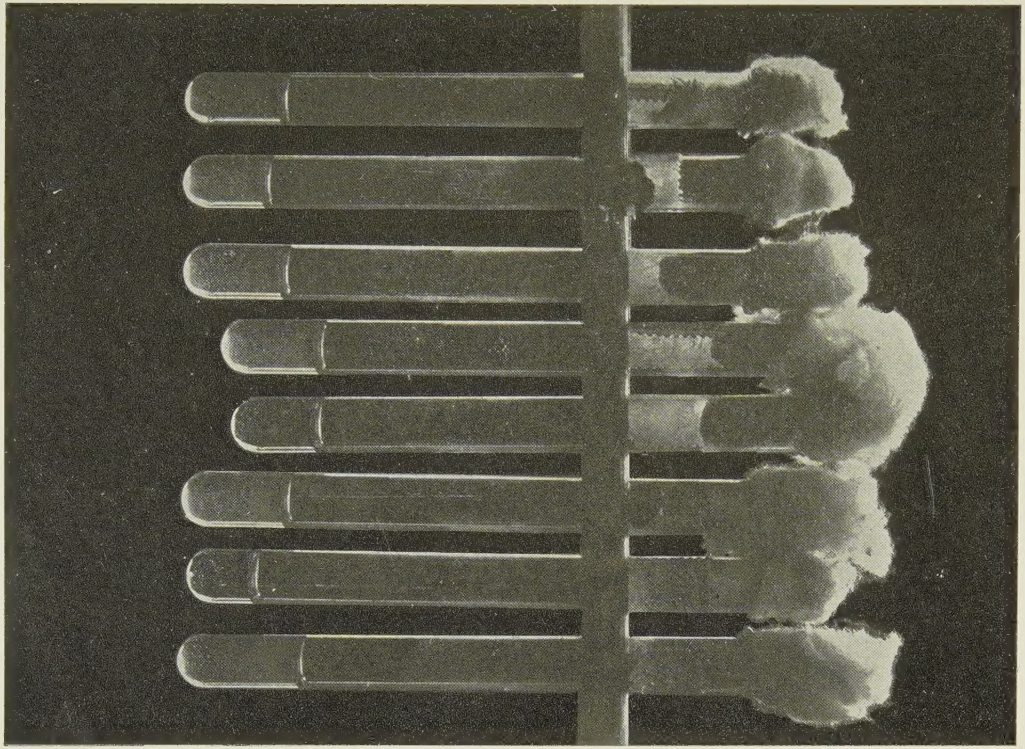
d = Bindegewebszellen.

e = Ein rotes Blutkörperchen.

Die Figuren wurden um $^1/_4$ verkleinert.

Fig. I.

Fig. II.



Retropl. Serum 0,1.

Retropl. Serum 0,2.

Serum Gravider 0,2.

Retropl. Serum 0,3.

Kontrolle.

Fötalblutserum 0,2.

Non Gravid. Serum.

Retropl. Serum 0,2.

Lebenslauf.

Am 18. September 1871 wurde ich, Masayori Kawasoye, buddhistischer Konfession, als Sohn des Masamori Kawasoye und seiner Ehefrau Iwa in Nagasaki, Japan, geboren.

Von 1877—1883 besuchte ich die staatliche Volksschule in Nagasaki.

Im Jahre 1883 trat ich in die staatliche Mittelschule zu Nagasaki ein, welche ich 1887 absolvierte. Hierauf bezog ich die Hochschule zu Nagasaki, um Medizin zu studieren.

Im September 1891 absolvierte ich dieselbe und wurde mir die Approbation als praktischer Arzt erteilt.

Von September 1891 bis Dezember 1892 praktizierte ich als Assistenzarzt an der Frauenklinik der medizinischen Abteilung der Hochschule zu Nagasaki. Von Januar 1893 bis September 1896 war ich als Oberarzt des Okinawa-Gouvernementspitals in Okinawa-Ken. angestellt.

Von September 1896 bis Januar 1903 bekleidete ich eine Professur an der medizinischen Akademie in Formosa, zugleich war ich als Oberarzt des Taipeh-Gouvernementspitals zu Taipeh tätig.

Im Januar 1903 bekam ich vom Formosa-Gouvernement Befehl, in Deutschland zu studieren.

Im Sommersemester 1903 immatrikulierte ich mich an der Universität Halle, im Wintersemester 1903/4 und im Sommersemester 1904 an der Universität Erlangen.